http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27761.1458

Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology
Spring/Summer 2022
Volume 9, Number 1
125-135

Original Article **Open Access**

The effect of 8 weeks of high-intensity interval water training on liver TLR-4 protein and serum TNF-α in male rats with non-alcoholic steatohepatitis by high-fat diet

Mohaddese Sayyad[1], Homa Sheikhani Shahin[2]*, Mehrzad Moqaddasi[3], Alireza Jowhari[4]

Receive 2022 April 13; Accepted 2022 May 18

Abstract

Aim: The aim of this study was to evaluate the effect of eight weeks of high-intensity intermittent exercise (HIIT) swimming on TNF-α and TLR4 in rats with nonalcoholic steatohepatitis (NASH). **Methods:** rats aged 6 to 8 years were randomly divided into healthy (n = 20) and patient (high fat diet (HFD)) (n=20) groups. The HFD lasted for 8 weeks until the rats became infected with NASH. After induction of the disease, the patient group was randomly divided into 2 groups: patient- inactive (n=10), patient-swimming (n=10); Also, the healthy group was divided into two groups: healthy-inactive (n=10) and healthy-swimming group (n=10). The HIIT swimming exercise consisted of 14 20-second swimming sessions with a 10-second break between each session (three days a week for eight weeks). In the intermittent exercise of the load in the first week, the weight was 7% of the body weight of each rat and 1% was added to it every week. TLR4 protein was measured from liver tissue by Western blotting and TNF-α from serum. One-way ANOVA and Bonferroni post hoc test ($p < 0.05$) were used to determine the differences between the groups. **Results**: in healthy-swimming and patient-swimming groups there was a significant decrease in the TNF-α variable compared to the sedentary patient (P=0.001) and in the TLR4 variable in the healthy-swimming group relative to the patient. There was a significant decrease in inactive (P=0.04) and a non-significant decrease in the patient-swimming group compared to the sedentary patient (P=0.87). **Conclusion**: This type of exercise in patients with NASH had a greater effect on TNF-α than TLR-4 and in general, it can be said that HIIT swimming training are useful on the level of liver inflammation in NASH patients.

Keywords: High intensity interval Swimming training, Non-Alcoholic steatohepatitis, TNF-α, TLR4

Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

١. Ms student of sports nutrionion,Zand Higher Education Institute, shiraz, Iran.
2.Assistant professor of sport physiology, Department of sport Science, Zand Higher Education Institute, shiraz, Iran.
(Corresponding Author): hsheikhani@yahoo.com
3.Associate professor in exercise physiology, Shiraz branch, Islamic Azad university, shiraz, Iran
4. PhD Student in Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Department of Sports Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

Cite as: Mohaddese Sayyad, Homa Sheikhani Shahin, Mehrzad Moqaddasi, Alireza Jowhari. The effect of 8 weeks of high-intensity interval water training on liver TLR-4 protein and serum TNF-α in male rats with non-alcoholic steatohepatitis by high-fat diet. Applied Health Studies in Sport Physiology. 2022; 9(1): 125-135.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University
Journal ISSN (online): 2676-6507
Access Type: Open Access
DOI: 10.22049/JAHSSP.2022.27761.1458
DOR: 20.1001.1.26766507.1401.9.1.11.2

Copyright ©The authors

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27761.1458

Extended abstract

Background

Non-alcoholic Steatohepatitis is a phase of non-alcoholic fatty liver disease that is infected with inflammation. The release of inflammatory factors such as tumor Necrosis factor alpha (TNF-α) and activation of Toll-like receptor 4 (TLR4) in the liver enhance inflammation (1, 2).currently, there is no approved drug treatment for NASH, and non-pharmaceutical treatment, including intensified physical activity, has been emphasized (8). In this disease with cellular-molecular approach, there is slight research on the effect of swimming on the improvement of inflammatory and anti-inflammatory biomarkers and it is still under investigation (13) Therefore, in the present study, the effect of eight weeks of high-intensity interval water training on TLR-4 and TNF-α in male rats with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) by high-fat diet was investigated.

Materials and Methods: Initially, Spragodavali rats with an average weight of 230±20 g, aged 6 to 8 years were randomly divided into two groups: healthy (n = 20) and patient (high fat diet (HFD) (n = 20). The high-fat emulsion diet consisted of 77% fat, 14% protein and 9% carbohydrates and was treated by nasogastric tube (10 ml/kg) once a day for 8 weeks, until the rats were suffering from NASH. After induction of the disease, the patient group was randomly divided into two groups: patient-sedentary (CD) (n=10), patient-swimming (n=10), and healthy group was divided into two groups: healthy-sedentary (C) (n=10) and healthy-swimming group SH (n= 10). HIIT Swimming Exercise included 14 times 20 seconds with 10 seconds rest between each time (three days a week for eight weeks). In the first week's periodic exercise, the weight was 7 % of the body weight each and was added 1 % each week; As the last week (eighth) swimming with 14 % weight of their body weight that was closed to the root of their tail (Table 1) (18). Exercises were performed in the evening, which is the best time to exercise in the rhythm of relaxed natural activities (19). After 48 hours of the last training session, the rats were anesthetized with Ketamine and Xylazine. After isolation, their serums were stored at -20 centigrade and liver tissue at -80 centigrade for final analysis. TNF-α were measured from blood serum through ELISA technique and TLR4 protein from liver tissue via western blot technique. To determine the differences between the groups, one-way ANOVA statistical test and Bonfrroni post hoc test ($p<0.05$) were used.

Findings: The results of statistical analysis indicated that in the healthy-swimming and patient-swimming groups there was a significant decrease in healthy swimming and patient- swimming groups in compared with sedentary patient in TNF-α variable (P=0.001) and in TLR4 variable in healthy-swimming group, there was a significant decrease in sedentary patient (P=0.04) and in the patient-swimming group, there was a significant decrease in sedentary (P=0.87) compared to the sedentary patient. Based on the results of variance analysis test, it can be concluded that there was a significant difference between the mean of TNF-α ($F_{(3,20)}=57.07, P<0.05$). According to the results of Bonfrroni post hoc test, these differences were in TNF-α variable, between groups (C-DC), (C-SD), (C-SH), (CD-SD), (CD-SH), (SH-SD). According to chart 1, there was a significant difference in TLR4 variable ($F_{(3,4)}=5.858, P<0.05$) F exists in all four groups. Pursuant to the results of Bonfrroni post hoc test, we find that this variable has a significant difference between groups (C-DC), (C-SD), (C-SH), (CD-SD), (CD-SH), (SH-SD). However, despite the decrease of this variable in the SD group compared to CD, it was not significant.

Copyright ©The authors Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27761.1458

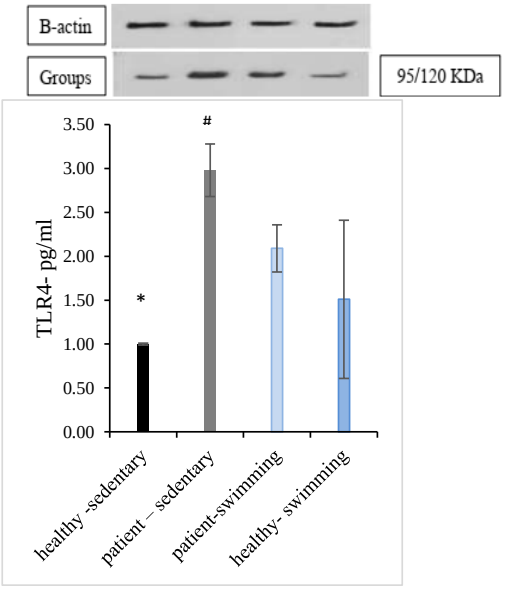


Chart 1-The level of TLR4 protein among four groups.*: Significant difference between Group C and CD, SD. #: Significant difference between CD group and SH, (P <0.05).

C= healthy -sedentary

CD=patient – sedentary

SD=patient- swimming

SH= healthy- swimming

Conclusion: The aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of high intensity interval swimming training on TNF-α and TLR4 in rats with non-alcoholic Steatohepatitis (NASH). The results showed that following eight weeks of high-intensity interval swimming training, serum TNF-α level increased significantly in the sedentary patient group compared to other groups. Also, there was a significant decrease in this factor in the patient-swimming group compared to the inactivity patient group. Moreover, the amount of TLR4 protein in the patient-sedentary group increased in comparison with the patient group, but it was not significant. These results demonstrate that the disease enhances inflammation as well as eight weeks of high intensity interval swimming exercises have a positive effect and significant reduction on inflammatory cytokine TNF-α and TLR4 protein .The reduction of TNF-α and TLR-4 in the training group has several physiological reasons; one is the presumptive reduction of visceral fat within the liver, the other is an enhancement in the volume of skeletal muscle that occurs due to exercise and the last is probabilistic increment in the concentration of anti-inflammatory cytokines (16,27).

Article message: Since non-alcoholic Steatohepatitis disease has a rising trend, it is more considerable to carry out sports investigation on these patients. Therefore, the results of the present study represented that high intensity swimming interval training had a greater effect on TNF-α variable than TLR-4. Totally, it can be deduced that eight weeks of high intensity interval swimming exercises improves the inflammatory factors associated with non-alcoholic Steatohepatitis. However, in order to obtain a deterministic consequence, this type of exercise should be studied in human studies in this patient community.

Copyright ©The authors

JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27761.1458

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال نهم، شماره اول ؛

بهار و تابستان ۱۴۰۱؛ صفحات ۱۲۵-۱۳۵

Open Access

مقاله پژوهشی

تاثیر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا در آب بر پروتئین TLR-4 کبد و TNF-α سرم در موش‌های صحرایی نر مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی با رژیم غذایی پرچرب

محدثه صیاد [۱]، هما شیخانی شاهین [۲*] مهرزاد مقدسی [۳]، علیرضا جوهری [۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۸

چکیده

هدف: هدف از این پژوهش، بررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی باشدت بالای (HIIT) شنا بر فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF-α) و گیرنده شبه‌تول ۴ (TLR4) در رت‌های مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) بود. **روش شناسی:** در ابتدا موش‌های صحرایی با سن ۶ تا ۸ ماهه به طور تصادفی به دو گروه سالم (n =۲۰) و بیمار (رژیم پرچرب (HFD)) (n =۲۰) تقسیم شدند. رژیم پرچرب به مدت ۸ هفته ادامه داشت تا موش‌های صحرایی مبتلا به NASH شوند. پس از القا بیماری، گروه بیمار به طور تصادفی به ۲ گروه بیمار- بی‌تحرک (n =۱۰)، بیمار- شنا (n =۱۰)، تقسیم شدند؛ هم‌چنین گروه سالم نیز به دو گروه سالم- بی‌تحرک (n =۱۰) و گروه سالم- شنا (n =۱۰) تقسیم گردیدند. تمرین HIIT شنا، شامل ۱۴ نوبت ۲۰ ثانیه‌ای شنا با ۱۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت (سه روز در هفته به مدت هشت هفته) بود. در تمرین تناوبی بار اعمال شده در هفته اول، وزنه‌ای به میزان ۷ درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود و هر هفته ۱ درصد به آن اضافه شد. پروتئین TLR4 از بافت کبد و از طریق تکنیک وسترن بلات و TNF-α از سرم خون اندازه‌گیری شدند. برای مشخص نمودن تفاوت میان گروه‌ها از آزمون آماری آنووای یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی (p<۰/۰۵) استفاده شد. **یافته‌ها:** نتایج آنالیز آماری نشان داد در گروه‌های سالم-شنا و بیمار-شنا نسبت به بیمار بی‌تحرک در متغیر TNF-α کاهش معنادار (P=۰/۰۰۱) داشت و در متغیر TLR4 در گروه سالم-شنا نسبت به بیمار بی‌تحرک (P=۰/۰۴) کاهش معنادار و در گروه بیمار-شنا نسبت به بیمار بی‌تحرک (P=۰/۸۷) کاهش غیرمعنادار داشتند. **نتیجه‌گیری:** این نوع تمرینات در بیماران مبتلا به NASH بر متغیر TNF-α نسبت به TLR-4 اثر کاهش بیشتری داشته است و در مجموع می‌توان گفت تمرینات HIIT شنا بر میزان سطح التهاب کبد در بیماران NASH مفید است.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی باشدت بالای شنا، استئاتوهپاتیت غیرالکلی، فاکتور نکروز تومور آلفا، گیرنده شبه تول ۴

با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www .jahssp.azaruniv.ac.ir/. مشاهده کنید

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه ورزشی، موسسه آموزش عالی زند شیراز، شیراز، ایران.

۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، موسسه آموزش عالی زند شیراز، شیراز، ایران.

*(نویسنده مسئول):

hsheikhani@yahoo.com

۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی ، شیراز، ایران

۴. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، بخش علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

نحوه ارجاع: محدثه صیاد، هما شیخانی شاهین ، مهرزاد مقدسی، علیرضا جوهری ." تاثیر ۸ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا در آب بر TLR-4 و TNF-α در موش‌های صحرایی نر مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) با رژیم غذایی پرچرب ". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۱: ۹ (۱)،۱۲۵-۱۳۵.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۲۶۷۶-۶۵۰۷

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2022.27761.1458

DOR: 20.1001.1.26766507.1401.9.1.11.2

Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir/
http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27761.1458

مقدمه

بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD[1]) شایع‌ترین بیماری مزمن کبدی در سراسر جهان است و تخمین زده می‌شود که یک سوم جمعیت جهان درگیر آن باشند. این بیماری شامل طیفی از بیماری‌های کبد چرب غیرالکلی، استئاتوهپاتیت غیر الکلی (NASH[2])، فیبروز پیشرفته و مرحله نهایی بیماری کبدی که همان کارسینوم سلول‌های کبدی می‌باشد، است. در بیماری NASH، به‌دلیل افزایش تجمع چربی بالای ۵ درصد وزن کبد، این مرحله از بیماری همراه با التهاب و استرس اکسیداتیو می‌باشد. از جمله دلایل افزایش التهاب آزادشدن عوامل التهابی هم‌چون فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF-α[3]) و فعال‌سازی گیرنده شبه‌تول ۴ (TLR4)[4]در کبد می‌باشد (۱, ۲).

TLR4، فاکتور هسته‌ای تقویت‌کننده زنجیره سبک کاپا از لنفوسیت‌هایِ بیِ فعال‌شده (NF-kβ[5]) را از طریق آبشار سیگنالینگ فعال می‌کند؛ که به نوبه خود باعث آزاد شدن فاکتور رشد تبدیل- β (TGF-β) و در نهایت باعث التهاب، نکروز و تشکیل فیبروز سلول‌های کبدی می‌شود. TLR4 گیرنده اصلی اندوتوکسین می‌باشد (۳). فعال شدن این گیرنده‌ها سبب افزیش تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و اینترفرون‌ها می‌گردند. طی پژوهشی که بر روی رت‌های دیابتی نر انجام شد. محققان دریافتند که به دنبال تمرینات تناوبی با شدت بالا؛ کاهش معنادار TLR4 در عضله قلبی رت‌ها را شاهد بودند و کاهش التهاب در قلب رت‌های بیمار را نتیجه گرفتند (۴). با تولید و آزادسازی هر چه بیشتر TNF-α، این عامل التهابی با اتصال به گیرنده خود (TNFR[6]) منجر به فعال‌سازی پروتئین IKKβ[7] می‌شود که به‌دنبال این فعال‌ساز IKβ[8] فسفوریله و غیرفعال می‌شود و درنتیجه NF-Kβ فعال می‌شود و رونویسی از فاکتورهای التهابی نظیر TNF-α را افزایش می‌دهد (۵, ۶). به‌نظر می‌رسد TNF-α نقشی اساسی در ایجاد استئاتوز کبدی دارد. با اتصال TNF-α به TNFR1، باعث فعال شدن کاسپاز- ۸ آغازگر و سپس کاسپاز-۳ می‌شود و منجر به آپوپتوز سلول‌های کبدی می‌شوند (۷).

در حال حاضر هیچ روش درمانی دارویی تایید شده‌ای برای NAFLD و NASH وجود ندارد. بنابراین همانند درمان توصیه شده برای سندرم متابولیک، درمان NAFLD و NASH بر اصلاح سبک زندگی از جمله کاهش وزن، تغییرات رژیم غذایی و افزایش فعالیت بدنی متمرکز شده است. به طوری‌که قنبری و همکاران (۲۰۲۱). طی پژوهشی به این نتیجه رسیدند که تمرینات هوازی تناوبی پرشدت می‌تواند بیان ژن P21 که یک عامل آپوپتوزی بافت کبد است را کاهش دهد (۸). علی- رغم اهمیت و اثرات مفید شناخته شده تمرینات ورزشی استقامتی؛ کمتر از ۲۰ درصد افراد ۱۵۰ دقیقه در هفته تمرینات استقامتی را انجام می- دهند و اغلب دلیل اصلی بی‌تحرکی و عدم انجام فعالیت ورزشی خود را کمبود وقت گزارش کرده‌اند. در دهه گذشته چندین مطالعه بر روی انسان نشان داده است که تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT[9])، یک برنامه تمرینی ورزشی شامل دوره‌های کوتاه مدت فعالیت ورزشی با شدت بالا (۹۰ تا ۱۰۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و به دنبال آن دوره‌های استراحت فعال یا غیرفعال است، می‌تواند با توجه به صرف زمان کمتر سازگاری‌های متابولیکی مشابهی نسبت به تمرین استقامتی کلاسیک (تمرینات تداومی سنتی) ایجاد کند (۱). مطالعات اخیر نشان داده است که HIIT می‌تواند قند خون و نشانگرهای مقاومت به انسولین را به طور مستقل و بدون تغییر در چربی احشایی و توده بدن در افراد با مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ و NASH کاهش دهد. محبی و همکاران (۲۰۱۹) به‌دنبال هشت هفته تمرینات HIIT در رت‌های نر چاق به این نتیجه رسیدند که این نوع تمرینات می‌تواند باعث کاهش TNF-α و افزایش معنادار IL-10 شود (۹). با این حال آن‌چه که در مورد HIIT وجود دارد این است که نتایج متفاوت و متناقضی برای گروه‌های خاص بیماری وجود دارد و NAFLD و NASH نیز از این قاعده مستثنا نیستند. برخی تحقیقات ثابت کرده‌اند که HIIT، حساسیت انسولین را با و بدون کاهش وزن بهبود می‌بخشد؛ با این‌حال مکانیزم‌ها و وقایع سلولی- مولکولی و بافت‌های دخیل در ایجاد این بهبودی هم- چنان تا حد زیادی ناشناخته مانده است. از این‌رو تحقیقات انجام شده تلاش کرده‌اند تا بهترین نوع تمرین و دوز تمرینی از نظر شدت و حجم را برای کاهش محتوای چربی کبد، معکوس کردن روند پیشرفت NASH یا بهبود فیبروز را مشخص کنند که تا به حال به این هدف نائل نشده‌اند (۱۰-۱۲).

با این حال اکثر پژوهش‌ها بر تمرینات ورزشی در خشکی متمرکز شده- اند و نتایج متناقضی از تاثیر این نوع تمرینات بر بهبود استرس اکسیداتیو عوامل التهابی و ضدالتهابی در بیماران NASH گزارش کرده‌اند. از طرف دیگر پژوهش‌های بسیار اندکی درباره تاثیر محیط آبی و شنا بر میزان بهبود بیومارکرهای التهابی در بیماران NASH وجود دارند (۱۳). در همین راستا مارتینز و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی رت‌های نر جوان سالم پژوهشی انجام دادند و نشان دادند که تمرینات روزانه شنا با شدت متوسط با کاهش پراکسیداسیون لیپید و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو و التهابی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی همراه است (۱۴). ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۰ طی پژوهشی به مدت ۱۲ هفته به رت‌های مبتلا به NASH ناشی از رژیم پرچرب، تمرین منظم شنا دادند. آن‌ها پس از ۱۲ هفته مشاهده کردند که سطح پلاسمایی TNF-α که یک فاکتور التهابی است؛ کاهش یافته است (۱۵). با این‌حال طی جستجوهای فراوان پژوهش‌های بسیار اندکی در زمینه تاثیر تمرینات آبی بر بهبود بیومارکرهای التهابی و ضدالتهابی وجود دارد و هم‌چنین مکانیسم‌های سلولی و مولکولی اثرات بهبود دهنده چند عاملی فعالیت ورزشی به‌خصوص در محیط آبی بر NAFLD و NASH هم‌چنان

[1] Non-alcoholic fatty liver disease
[2] non-alcoholic steatohepatitis
[3] tumor necrosis factor alpha
[4] Toll-like receptor 4
[5] NF-kappaB, "nuclear factor kappa-light-chain enhancer of activated B cells
[6] TNF receptor 1
[7] inhibitor of NFκB kinases
[8] inhibitor of NFκB
[9] high-intensity interval training

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

مورد بحث است و ناشناخته مانده است. از این‌رو به مطالعات بیشتری در زمینه بررسی نقش‌های خاص فعالیت ورزشی در محیط آبی در شبکه‌های متابولیکی و مسیرهای سیگنالینگ اصلی مورد بحث، نیاز است. لذا در تحقیق حاضر به بررسی تاثیر ۸ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا در آب بر TLR-4 و TNF-α در موش‌های صحرایی نر مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) با رژیم غذایی پرچرب پرداخته شد.

روش پژوهش

روش تحقیق مورد استفاده در این پژوهش با توجه به هدف از نوع توسعه‌ای- بنیادی و با در نظر گرفتن روش از نوع تجربی می‌باشد. در این پژوهش، ۴۰ سر موش صحرایی نر (سن: ۶ تا ۸ هفته) از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزن ۲۰ ± ۲۳۰ گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز با دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. ۲۰ سر موش صحرایی سالم از این ۴۰ سر، به دو گروه سالم-بی‌تحرک (C) و سالم-شنا (SH) تقسیم شدند. در ادامه، ۲۰ سر موش صحرایی دیگر از این نمونه آماری به بیماری کبد چرب غیرالکلی دچار شدند. بعد از ۸ هفته که این تعداد موش‌های صحرایی به بیماری کبد چرب غیرالکلی دچار شدند، آن‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه بیمار-بی‌تحرک (CD) و گروه بیمار—شنا (SD) تقسیم شدند. اصول اخلاقی (IR.SUMS.REHAB.REC.1400.008) مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت.

رژیم امولسیون پرچرب، که ۷۷ درصد از چربی، ۱۴ درصد از پروتئین و ۹ درصد از کربوهیدرات‌ها است، تشکیل شد. در این امولسیون، پروتئین‌ها توسط پودر شیر خشک، کربوهیدرات‌ها توسط ساکاروز و چربی توسط روغن ذرت و کلسترول تأمین شدند. هر وعده با مخلوطی از ویتامین و مواد معدنی تکمیل شد. این امولسیون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره، در حمام آب با دمای ۴۲ درجه سانتیگراد گرم و قبل از استفاده کاملاً میکس و مخلوط شد. در گروه رژیم پرچرب علاوه بر غذای روزانه استاندارد جوندگان، به‌صورت خوراکی و توسط تکنیک گاواژ، موش‌های صحرایی با امولسیون پرچرب (۱۰میلی‌لیتر در کیلوگرم) یک بار در روز تحت درمان قرار گرفتند. به موش‌های صحرایی گروه سالم نیز از طریق تکنیک گاواژ، روزانه مقدار مساوی محلول نمک (سالین) داده شد. این شیوه تغذیه‌ای به مدت هشت هفته ادامه داشت تا بر اساس مقالات پیشینه موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی پیشرفته (NASH) شدند (۱۶).

در پژوهش حاضر، همه موش‌های صحرایی به‌مدت یک هفته مرحله آشنایی با استخر حیوانات (قطر ۱۶۰ سانتی و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر) را قبل از شروع تمرین اصلی گذراند (۱۷). در روز اول موش‌های صحرایی با نهایت دقت و آرامش در استخر حیوانات با عمق آب ۵۰ سانتی‌متر و میانگین دمای ۰/۵ ± ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و با سرعت دلخواه به مدت ۵ دقیقه شنا کردند. در جلسات بعد که موش‌های صحرایی به خوبی با استخر حیوانات آشنا شدند؛ برای آشنایی با نوع تمرین تناوبی، چندین بار بعد از یک دقیقه شنا به وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده و دوباره در آب قرار داده شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از زمان آخرین جلسه آشنایی، موش‌های صحرایی گروه تمرین، تمرین HIIT شنا، شامل ۱۴ نوبت ۲۰ ثانیه‌ای شنا با ۱۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت را انجام دادند. این برنامه ورزشی به مدت هشت هفته (سه روز در هفته، یک روز در میان) انجام شد. در تمرین تناوبی بار اعمال شده در هفته اول، وزنه‌ای به میزان ۷ درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود و هر هفته ۱ درصد به آن اضافه شد؛ به طوری‌که در هفته آخر (هشتم) موش‌های صحرایی با وزنه‌ای به میزان ۱۴ درصد وزن بدن خود که به ریشه دم آن‌ها بسته شد، شنا کردند (جدول۱) (۱۸). تمرینات، عصر هنگام (بهترین زمان تمرین در ریتم فعالیتی طبیعی موش‌های صحرایی) انجام شد (۱۹). در مدت دوره تداخل، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیر قابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس نمونه خونی از آن‌ها گرفته شد و پس از جداسازی سرم از آن‌ها برای سنجش‌های بعدی با دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد. با استفاده از روش آزمایشگاهی الایزا TNF-α سرم اندازه‌گیری شد. جداسازی سرم بدین شکل بود که پس از بیهوشی و نمونه‌گیری از قلب موش صحرایی به‌میزان ۵ سی‌سی؛ بلافاصله آن را در داخل لوله آزمایش ژل کلات اکتیویتر انتقال داده و سپس توسط سانترفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه و دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانترفیوژ شدند. پس از آن توسط سمپلر به میکروتیوب‌های ۲ سی‌سی سرم خون منتقل شد و برای آنالیز نهایی در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری TNF-α از کیت Rat TNF-α به شماره کاتالوگ DY510-05 (5 plates), DY510 (15 plates) از شرکت DuoSet® ELISA استفاده شد. هم‌چنین جهت اندازه‌گیری پروتئین بافتی، بافت کبد پس از جداسازی، در محلول نرمال سالین شستشو داده شد و بلافاصله در تانک ازت در دمای منهای ۱۹۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس جهت انجام تکنیک وسترن بلات و آنالیزهای نهایی پروتئین TLR4، به آزمایشگاه منتقل شد. به‌طور کلی مراحل انجام تکنیک وسترن بلات به‌ترتیب شامل لیزکردن بافت، تعیین غلظت پروتئین به‌وسیله بردفورد، تهیه غلظت‌های مختلف BSA برای کشیدن منحنی استاندارد، غلظت‌های پروتئین، آب و سمپل بافر، آماده سازی نمونه، ساخت الکتروفوژ بر روی ژل SDS page، تهیه محلول‌ها، روش انجام آزمایش و ساختن ژل پایین و بالا، الکترو فوز بر ژل SDS page، وسترن بلات یا ایمنوبلاتینگ، مرحله انتقال از ژل به کاغذ، مرحله بلاکینگ، مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی اولیه (β-Actin (C4): sc-47778, TLR4 (25): sc-293072)، مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی

Copyright ©The authors

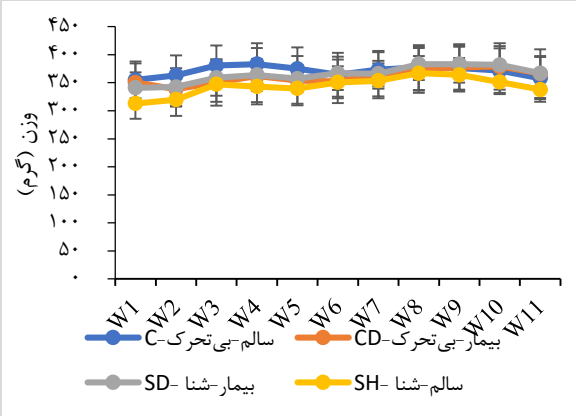
ثانویه (m-IgGκ BP-HRP: sc-516102, mouse anti-rabbit IgG-HRP: sc-2357)، مرحله آشکارسازی، مرحله ظهور فیلم در تاریک‌خانه، روش Striping بود. در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی، میانگین، انحراف‌معیار و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی اطلاعات جمع‌آوری شده برای تعیین نحوه توزیع داده‌ها از آزمون شپیرو–ویلک استفاده شد. در صورت طبیعی‌بودن یافته‌ها، از روش تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد. در صورت معنادار بودن تفاوت‌ها، از آزمون تعقیبی بونفرونی برای تعیین محل دقیق تفاوت‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد. کلیه روش‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel2019 کمک گرفته شد.

جدول۱ - پروتکل تمرینی شنا با شدت بالا (یک روز در میان)

	تعداد (نوبت)	مدت تلاش (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان اضافه بار (درصد وزن بدن)
هفته اول	۱۴	۲۰	۱۰	۷
هفته دوم	۱۴	۲۰	۱۰	۸
هفته سوم	۱۴	۲۰	۱۰	۹
هفته چهارم	۱۴	۲۰	۱۰	۱۰
هفته پنجم	۱۴	۲۰	۱۰	۱۱
هفته ششم	۱۴	۲۰	۱۰	۱۲
هفته هفتم	۱۴	۲۰	۱۰	۱۳
هفته هشتم	۱۴	۲۰	۱۰	۱۴

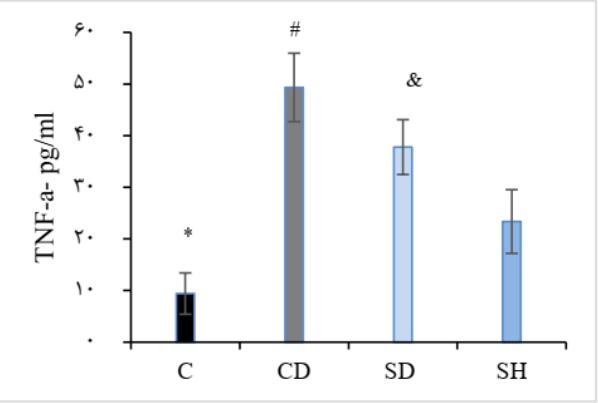
یافته‌ها

در نمودار ۱ میانگین ± انحراف استاندارد وزن گروه‌های آزمایش طی دوره تداخل تمرینی در گروه‌های مختلف در هفته‌های اول تا یازدهم ارائه شده است. هفته‌های یک و دو سازگاری با آب و هفته‌های سه تا ده دوره تمرین اصلی و هفته یازدهم وزن کشی نهایی و کشتار رت‌ها بودند.



نمودار ۱ میانگین ± انحراف استاندارد وزن گروه‌های آزمایش طی دوره تداخل تمرینی

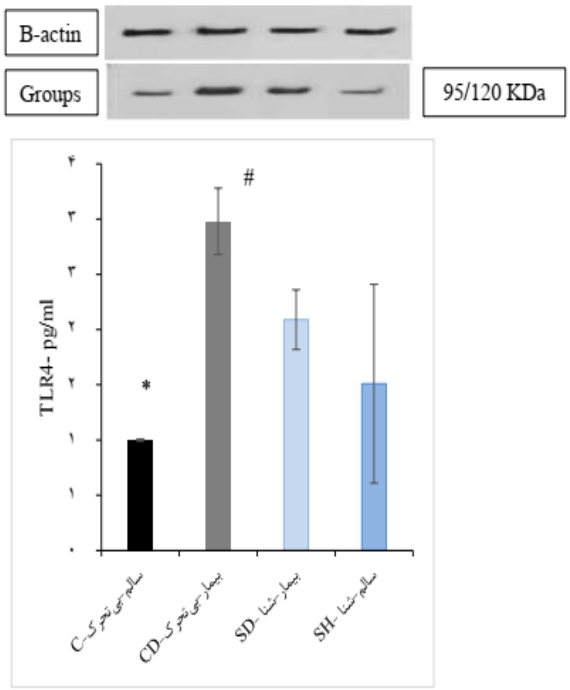
همان‌گونه که در نمودار ۲ مشخص است؛ بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس، می‌توان گفت تفاوت معناداری بین میانگین TNF-α ($F_{(۳،۲۰)}$ =۵۷/۰۷، P<۰/۰۵) وجود داشت. با توجه به نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی این تفاوت‌ها در متغیر TNF-α، بین گروه‌های (C-DC)، (C-SD)، (C-SH)، (CD-SD)، (CD-SH)، (SH-SD) بود.



نمودار ۲-سطح سرمی TNF-α در میان چهار گروه- *: تفاوت معنادار بین گروه C با CD، SD، SH- #: تفاوت معنادار بین گروه CD با SD و SH- &: تفاوت معنادار بین گروه SD با SH- (p<۰/۰۵)

با توجه به نمودار ۳ در می‌یابیم که تفاوت معنادار در متغیر TLR4 ($F_{(۳،۴)}$ =۵/۸۵۸، P<۰/۰۵) در هر چهار گروه وجود دارد. با توجه به نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در می‌یابیم که این متغیر، بین گروه‌های (C-DC)، (C-SD)، (C-SH)، (CD-SD)، (CD-SH)، (SH-SD) دارای تفاوت معنادار بوده است. با این‌حال با وجود کاهش این متغیر در گروه SD نسبت به CD، اما معنادار نشد.

Copyright ©The authors



نمودار۳-سطح پروتئین TLR4 در میان چهار گروه- *: تفاوت معنادار بین گروه C با CD، SD- #: تفاوت معنادار بین گروه CD با SH- (p<۰/۰۵)

بحث

هدف پژوهش حاضر، بررسی تاثیر هشت هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا شنا بر TNF-α و TLR4 در رت‌های مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) بود. نتایج نشان داد به‌دنبال هشت هفته تمرینات تناوبی پرشدت شنا، سطح TNF-α سرم در گروه بیمار-بی‌تحرک نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنادار داشت. هم‌چنین کاهش معنادار این عامل در گروه بیمار-شنا نسبت به گروه بیمار-بی‌تحرک مشاهده شد؛ هم‌چنین میزان پروتئین TLR4 در گروه بیمار-بی‌تحرک نسبت به گروه بیمار-شنا افزایش داشت اما معنادار نبود. این نتایج نشان می‌دهند که بیماری باعث افزایش التهاب شده است و هم‌چنین هشت هفته تمرینات شنای تناوبی پرشدت تاثیر مثبت و کاهش قابل توجه بر سایتوکاین التهابی TNF-α و پروتئین TLR4 دارد.

چنین یافته‌هایی در راستای گزارش‌های قبلی است که نشان می‌دهد بیماران چاق مبتلا به NASH بیان بیش از حد سایتوکاین التهابی TNF-α و mRNA TNF-α در کبد و بافت‌های چربی را نشان دادند (۱۵). جدیدی و همکاران (۲۰۱۹)، طی تحقیقی به این نتیجه رسیدند که مصرف طولانی‌مدت رژیم غذایی پرچرب، آسیب‌های کبدی رت‌های نوجوان را افزایش می‌دهد (۲۰). بهبود NASH ناشی از مصرف طولانی مدت رژیم غذایی پرچرب در موش‌ها همراه با ورزش در خشکی، در مطالعات قبلی نشان داده شده است (۲۱-۲۳).

با توجه به اطلاعات ما، این اولین شواهدی است که نشان می‌دهد تمرینات ورزشی پرشدت در آب می‌تواند کاهش معناداری را در سطح سرمی TNF- α در بیماران NASH ناشی از رژیم غذایی پرچرب رقم بزند. بردلی[۱۰] و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که فعالیت ورزشی اختیاری به‌مدت شش هفته بیان mRNA TNFα بافت چربی را کاهش می‌دهد اما این پدیده در کبد در موش‌های صحرایی غذای پرچرب و غذای استاندارد اتفاق نیافتاد (۲۴). دلیل مغایرت نتیجه تحقیق یاد شده با تحقیق حاضر ممکن است به‌دلیل نوع (تمرین تناوبی با شدت بالا) و محیط فعالیت ورزشی (محیط آبی) باشد. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های مطالعات قبلی موافق است به‌طوری‌که بهبود سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در شرایط بالینی نظیر چاقی یا بیماری‌های قلبی-عروقی با فعالیت ورزشی مشاهده شده است (۲۵). زو[۱۱] و همکاران (۲۰۰۶)، گزارش کردند که TNF-α پلاسما در غیاب بروز عفونت، با حجم و توده چربی احشایی رابطه مستقیم دارد (۱۶). در نتیجه چنین تصور می‌شود که به‌دنبال هشت هفته فعالیت ورزشی تناوبی شنا با شدت بالا کاهش سطح سرمی TNF- α به‌دنبال کاهش سطح چربی احشایی بوده است. هم‌چنین اثبات شده است به‌دنبال فعالیت ورزشی حجم توده عضلات اسکلتی افزایش می‌یابد با افزایش توده عضلانی و ترشح سایتوکاین‌های ضدالتهابی از عضلات اسکلتی، مانع تولید سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF-α می‌شود. در مطالعه حاجی‌قاسمی و همکاران در سال ۲۰۱۸ تفاوت معنی‌داری در سطح TNF-α و کاهش چشمگیری در غلظت IL-10 بافت کبدی موش‌های مبتلا به NAFLD مشاهده شد (۲۶). از آن‌جایی‌که IL-10 دارای نقش ضدالتهابی و TNF-α دارای نقش القا التهاب ایفا می‌کنند؛ لذا کاهش سطح IL-10 و از طرفی افزایش سطح TNF-α در کبد موش‌های مبتلا به NAFLD احتمالاً یکی از دلایل افزایش التهاب در آن‌ها است (۲۷). به‌طور مشابهی، سیف‌الدین[۱۲] و همکاران در سال ۲۰۱۴ افزایش سطح میانجی‌های التهابی نظیر TNF-α و TNF-β[۱۳]را در کبد موش‌های مبتلا به NAFLD مشاهده کردند که با افزایش فیلتراسیون سلول‌های التهابی و هم‌چنین افزایش معنی‌داری در سطح سرمی آنزیم‌های کبدی، لپتین، کلسترول، تری‌گلیسرید و مالون‌دی‌الدئید بود (۲۸). شاید بتوان دلیل بالاتر بودن TNF-α درگروه چاق را در اختلاف میزان چربی بین دو گروه دانست. به‌نظر می‌رسد پاسخ التهابی در سلول‌های چربی شروع می‌شود. از سازوکارهای فعال شدن مسیرهای التهابی با افزایش توده چربی، افزایش گیرنده استرس و سازوکار استرس اکسیداتیو در افراد چاق است (۲۹). از جمله دلایل فیزیولوژیک دیگری که تحقیقات افزایش TNF-α را توجیه کرده‌اند؛ تسهیل تولید آن توسط سلول‌های مونوسیت می‌باشد (۳۰). رابینسون[۱۴] و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهشی طی دو هفته یک روز در هفته با شدت ۶۵ تا

[10] Bradley
[11] Zou
[12] SEIF EL-DIN
[13] Tcum Necrosis Factor-β (TNF-β)
[14] Robinson

Copyright ©The authors

۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب به بیماران پیش‌دیابتی بزرگسال فعالیت ورزشی اعمال کردند. در پایان به این نتیجه رسیدند که سطح TLR4 و TLR2 کاهش معنادار داشته و همچنین TNF-α ، IL-10، IL-1B و IL-6 عدم تغییر معناداری را نشان دادند. از جمله دلایل عدم معناداری متغیرهای تحقیق حاضر در گروه بیمار–شنا نسبت به بیمار–بی‌تحرک می‌توان به نوع بیماری (NASH در برابر پیش دیابتی)، در دسترس قرار دادن دائم رژیم پرچرب در کل دوره آزمایش، نوع آزمودنی (حیوان در برابر انسان)، مدت زمان دوره تمرین و تفاوت در متغیرهای تمرینی (مدت دوره دوهفته، یکبار در هفته در برابر مدت دوره هشت هفته، سه بار در هفته) و همچنین مدل تمرین (تداومی سنتی در خشکی در برابر تناوبی پرشدت در آب) اشاره کرد (۳۱).

از جمله مکانیسم‌های بیوشیمیایی و سلولی–مولکولی این نتایج می‌توان به افزایش سطح TNF-α اشاره کرد. هم‌چنین برخی تحقیقات اذعان کرده‌اند با افزایش میزان چربی سفید و یا به دنبال فعالیت‌های ورزشی شدید وامانده‌ساز، سطح LPS افزایش یافته و به تنظیم بیش از حد TLR2، TLR4 وNF-kβ کمک می‌کند. در نتیجه، افزایش سایتوکاین‌های التهابی از جمله TNF-α در گردش خون افزایش می‌یابد. افزایش چربی احشایی و هم‌چنین استرس حاد تمرینی، تکانه‌های عصبی را به مغز منتقل می‌کند و سطح هورمون‌های ضد-تنظیمی مانند کورتیزول را افزایش می‌دهد. بر این اساس، استرس اکسیداتیو میتوکندری بالا ناشی از تمرینات هوازی شدید باعث تشکیل بیش از حد ROS درون سلولی می‌شود که هم‌چنین بیان NF-kβ را تنظیم می‌کند و حالت التهابی حاد را تشدید می‌کند. در شرایط التهاب حاد، ایمنی اکتسابی می‌تواند با افزایش عوامل تحریک‌کننده در سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن ایجاد شود و در نتیجه سلول‌های T را فعال کند. فعالیت این سلول‌ها باعث تشدید التهاب مزمن می‌شود. در مقابل با انجام فعالیت‌های ورزشی منظم و کاهش توده چربی احشایی و کبدی، بیان لیپوپلی‌ساکاریدها (LPS[۱۵])، TLR2، TLR4 و NF-kβ کاهش می‌یابد. در این شرایط، NF-kβ به هسته سلول منتقل نمی‌شود. در عوض، مسیر ضدالتهابی PI3K/AKT/mTOR فعال شده و تولید سایتوکاین‌های ضدالتهابی را افزایش می‌دهد که این عوامل باعث غیرفعال کردن TNF-α می‌شود. هم‌چنین فعالیت‌های ورزشی منظم تناوبی در آب دارای اثر جبرانی در برابر تشدید استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن (که هر دو مسئول آسیب اکسیداتیو می‌باشند) هستند. هم‌چنین به دنبال این نوع از فعالیت‌های ورزشی افزایش IGF-1 مشاهده شده است. IGF-1 یک اثر ضدالتهابی بر روی سلول‌های عضلات اسکلتی ایجاد می‌کند و از طریق کاهش بیان TLR4، بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی را کاهش می‌دهد (۳۲). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرینات تناوبی پرشدت شنا باعث کاهش عامل التهابی TNF-α و کاهش TLR4 می‌شود که در مجموع می‌توان نتیجه گرفت هشت هفته تمرینات شنای تناوبی با شدت بالا باعث بهبود عوامل التهابی مرتبط با بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی می‌شود. با این‌حال برای حصول نتیجه قطعی، می‌بایست این نوع تمرینات را در مطالعات انسانی در این جامعه بیمار مورد مطالعه قرار داد.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

Reference

1. Kwak M-S, Kim D. Non-alcoholic fatty liver disease and lifestyle modifications, focusing on physical activity. The Korean journal of internal medicine. 2018;33(1):64.
2. Sharifnia T, Antoun J, Verriere TG, Suarez G, Wattacheril J, Wilson KT, et al. Hepatic TLR4 signaling in obese NAFLD. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 2015;309(4):G270-G8.
3. Tajik N, Nasiri M, Jafari M, Mousavi T, Farnia P, Salekmoghaddam A, et al. Association between toll-like receptor 4 (TLR4) genetic polymorphisms and susceptibility to pulmonary tuberculosis. Razi Journal of Medical Sciences. 2010;16:19-26. [In Persian]
4. Sofalmanesh S, Khaledi N, Askari H. The effect of high intensity interval training on activated transcription factor 3 and Toll-like receptor 4 myocardia gene expression in diabetic rats. Sport Physiology. 2019;11(43):39-54. [In Persian
5. Liang H, Yang X, Liu C, Sun Z, Wang X. Effect of NF-kB signaling pathway on the expression of MIF, TNF-α, IL-6 in the regulation of intervertebral disc degeneration. Journal of musculoskeletal & neuronal interactions. 2018;18(4):551.
6. Sas L, Lardon F, Vermeulen PB, Hauspy J, Van Dam P, Pauwels P, et al. The interaction between ER and NFκB in resistance to endocrine therapy. Breast Cancer Research. 2012;14(4):1-14.
7. Ezquerro S, Mocha F, Frühbeck G, Guzmán-Ruiz R, Valentí V, Mugueta C, et al. Ghrelin Reduces TNF-α–Induced Human Hepatocyte Apoptosis, Autophagy, and Pyroptosis: Role in Obesity-Associated NAFLD. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2019;104(1):21-37.
8. Ghanbari S, Ravasi AA, Shariatzade Joneidi M. Effect of exercise with different

[۱۵] Lipopolysaccharides (LPS)

Copyright ©The authors

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27761.1458

training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. PloS one. 2015;10(6):e0131766.
19. Shafiee A, Gaeini A, Soleimani M, Nekouei A, Hadidi V. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mRNA in soleus muscle healthy male rats. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2014;17(3):26-34. [In Persian]
20. Rigi, A., Ghofrani, M., Helalizadeh, M. The Effect of 8 Weeks High Intensity Interval Training and Moderate-Intensity Continuous Training on Plasma GDF-15, Troponin and hs-CRP in Obese Young Men. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*, 2020; 7(2): 81-88. [In Persian]

21. Farzanegi P, Dana A, Ebrahimpoor Z, Asadi M, Azarbayjani MA. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. European journal of sport science. 2019;19(7):994-1003.
22. Ore A, Akinloye OA. Oxidative stress and antioxidant biomarkers in clinical and experimental models of non-alcoholic fatty liver disease. Medicina. 2019;55(2):26.
23. Smeuninx B, Boslem E, Febbraio MA. Current and future treatments in the fight against non-alcoholic fatty liver disease. Cancers. 2020;12(7):1714.
24. Bradley RL, Jeon JY, Liu F-F, Maratos-Flier E. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2008;295(3):E586-E94.
25. Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. Gastroenterology. 2011;140(6):1756-67. e1.
26. Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z, Naghizadeh M, Salehi G. Effects of resveratrol, exercises and their combination on Farnesoid X receptor, Liver X receptor and Sirtuin 1 gene expression and apoptosis in the liver of elderly rats with nonalcoholic fatty liver. PeerJ. 2018;6:e5522.
27. Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease. Archives of physiology and biochemistry. 2019;125(2):142-9.
28. SEIF EL-DIN SH, Sabra A-NA, Hammam OA, Ebeid FA, El-Lakkany NM. Pharmacological and antioxidant actions of garlic and/or onion in intensities on the selected index of apoptosis in the liver tissue of male Wistar rats. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2021;8(1):21-7. [In Persian]

9. AKBARI A, MOHEBI H, KHALAFI M, Moghadmi K. The effect of two types of high intensity and moderate intensity continuous training on serum levels of TNF-α and IL-10 in obese male rats. JOURNAL OF APPLIED HEALTH STUDIES IN SPORT PHYSIOLOGY. 2019;6(1 #r00666):-. [In Persian]

10. Hamasaki H. Perspectives on Interval Exercise Interventions for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Medicines. 2019;6(3):83.
11. Jordy AB, Kraakman MJ, Gardner T, Estevez E, Kammoun HL, Weir JM, et al. Analysis of the liver lipidome reveals insights into the protective effect of exercise on high-fat diet-induced hepatosteatosis in mice. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2015;308(9):E778-E91.
12. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MØ, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. Cardiovascular research. 2009;81(4):723-32.
13. Nagle EF, Sanders ME, Franklin BA. Aquatic high intensity interval training for cardiometabolic health: benefits and training design. American journal of lifestyle medicine. 2017;11(1):64-76.
14. Martins RR, de Oliveira Macedo UB, Leite LD, Rezende AA, Brandão-Neto J, Almeida MdG. Lipoic acid and moderate swimming improves the estrous cycle and oxidative stress in Wistar rats. Applied physiology, nutrition, and metabolism. 2011;36(5):693-7.
15. Zhang H, He Y, Chung PK, Tong TK, Fu FH, Chen Y, et al. Effects of 12 weeks of exercise on hepatic TNF-α and PPARα in an animal model of high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis. Journal of Exercise Science & Fitness. 2009;7(1):18-23.
16. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life sciences. 2006;79(11):1100-7.
17. Farzanegi P, habibian m, alinejad h. The Combined Effect of Regular Aerobic Exercise with Garlic Extract on Renal Apoptosis Regulatory Factors in Aged rats with Chronic Kidney Disease. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2016;19(3):62-70. [In Persian]
18. Ramos-Filho D, Chicaybam G, de-Souza-Ferreira E, Guerra Martinez C, Kurtenbach E, Casimiro-Lopes G, et al. High intensity interval

Copyright ©The authors

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27761.1458

non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats. Journal of the Egyptian Society of Parasitology. 2014;44(2):295-308.
29. Poret JM, Souza-Smith F, Marcell SJ, Gaudet DA, Tzeng TH, Braymer HD, et al. High fat diet consumption differentially affects adipose tissue inflammation and adipocyte size in obesity-prone and obesity-resistant rats. International Journal of Obesity. 2018;42(3):535-41.
30. Arrese M, Cabrera D, Kalergis AM, Feldstein AE. Innate immunity and inflammation in NAFLD/NASH. Digestive diseases and sciences. 2016;61(5):1294-303.
31. Robinson E, Durrer C, Simtchouk S, Jung ME, Bourne JE, Voth E, et al. Short-term high-intensity interval and moderate-intensity continuous training reduce leukocyte TLR4 in inactive adults at elevated risk of type 2 diabetes. Journal of applied physiology. 2015;119(5):508-16.
32. Kawaratani H, Moriya K, Namisaki T, Uejima M, Kitade M, Takeda K, et al. Therapeutic strategies for alcoholic liver disease: Focusing on inflammation and fibrosis. International journal of molecular medicine. 2017;40(2):263-70.

Copyright ©The authors